

RESUMEN ANALITICO ESPECIALIZADO – RAE

1. Información General	
Tema	Química Analítica
Titulo	Métodos de ensayo utilizados en la determinación de amino nitrógeno libre (NFA) en materiales que cursan o están destinados a procesos de fermentación alcohólica
Autor(es)	Jenny Constanza León Niño
Director	Marcela Andrea Zambrano
Fuente Bibliográfica	Abbiotek. (2017). <i>Nitrógeno fácilmente asimilable información de estudio</i>. ABBiotech Partners in Fermentation. https://abbiotek.com/perch/resources/maurivin-yeast-assimilable-nitrogen-research-information-march-2017-web.pdf. Agilent Technologies, Inc., (2021). <i>Conceptos básicos de la espectroscopia FTIR</i>. Agilent. https://www.agilent.com/en/support/molecular-spectroscopy/ftir-spectroscopy/ftir-spectroscopy-basics-faqs. Agudelo, D., y Vásquez, J. E. (2009). <i>Estudio sobre la utilización de espectroscopia infrarrojo para medir la concentración de glucosa en sangre</i> [Tesis de Pregrado, Universidad Autónoma de Occidente] https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/1150/TBM00278.pdf?sequence=3&isAllowed=y Alonso, S., Gutiérrez, I., y Romero, E. (2007). Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. <i>Journal of Agricultural and Food Chemistry</i>, 55(3), 608–613. https://doi.org/10.1021/jf062820m AOAC International. (2005). <i>AOAC Official Method 945.30 Characteristics of Wort</i>. Assis da Veiga, C. A. (2014). <i>Quantificação de azoto facilmente assimilável de uvas brancas e tintas da Tapada da Ajuda em dois anos consecutivos (2013 e</i>

2014). *Validação e comparação da titulação formol e FT-MIR* [Tesis de Maestría, Instituto Superior de Agronomia Universidade de Lisboa] Repositorio da Universidade de Lisboa. <http://hdl.handle.net/10400.5/8225>

ASTM International. (2014). *ASTM D6423-14, Standard Test Method for Determination of pH_e of Denatured Fuel Ethanol and Ethanol Fuel Blends*.

Basalekou, M., Pappas, C., Tarantilis, P. A., y Kallithraka, S. (2020). Wine Authenticity and Traceability with the Use of FT-IR. *Beverages* 6(30), 1–13. <https://doi.org/10.3390/beverages6020030>

Bauer, R., Nieuwoudt, H., Bauer, F. F., Kossmann, J., Koch, K. R., y Esbensen, K. H. (2008). FTIR spectroscopy for grape and wine analysis. *Analytical Chemistry*, 80(5), 1371–1379. <https://doi.org/10.1021/ac086051c>

Bell, S. J., y Henschke, P. A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 242–295. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x>

Bely, M., Sablayrolles, J., y Barre, P. (1990) Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in oenological conditions. *Journal of fermentation and bioengineering*, 70(4), 246-252. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(90\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0922-338X(90)90057-4)

Biosystems S.A. (2020). Nitrógeno amínico primario o-Ftalaldehído (OPA). <https://es.biosystems.es/downer.aspx?f=MTI4MDdjLnBkZg==&t=TWV0aG9kcW==>

Boudreau, T. F., Peck, G. M., O’Keefe, S. F., y Stewart, A. C. (2017). Free amino nitrogen concentration correlates to total yeast assimilable nitrogen concentration in apple juice. *Food Science & Nutrition*, 6(1), 119–123. <https://doi.org/10.1002/fsn3.536>

Buglass, A. J. (Ed). (2011). *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical*,

Analytical and Nutritional Aspects. John Wiley y Sons Ltd.

Callejón, R. M., Tesfaye, W., Torija, M. J., Mas, A., Troncoso, A. M., y Morales, M. L. (2008). HPLC determination of amino acids with AQC derivatization in vinegars along submerged and surface acetifications and its relation to the microbiota. *European Food Research and Technology*, 227(1), 93–102. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0697-6>

Callejón, R. M., Troncoso, A. M., y Morales, M. L. (2010). Determination of amino acids in grape-derived products: A review. *Talanta*, 81, 1143–1152. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.040>

Casalta, E., Sablayrolles, J. M., y Salmon, J. M. (2013). Comparison of different methods for the determination of assimilable nitrogen in grape musts. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.009>

Castellanos, I., Velandia, J., González, M., Varela, D., y Ramírez, E. (2018). *Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro UV-VIS UV-1800 de Shimadzu*. Ediciones EAN. <http://editorial.universidadean.edu.co/media/pdf-ean/aplic-genera-espectrofoto.pdf>

Castillo, G., Carballo, A., y Ramírez, J. (2019). Reacciones de derivatización por epoxidación y tosilación para separación de mezclas complejas de esteroides. *Colección Memorias de Los Congresos de La Sociedad Química de México 54° Congreso Mexicano de Química y 38° Congreso Nacional de Educación Química* 106–108. <https://sqm.org.mx/wp-content/uploads/2021/04/CMC-SQM-QORG1-2019.pdf>

Cejudo-Bastante, M. J., Sonni, F., Chinnici, F., Versari, A., Perez-Coello, M. S., y Riponi, C. (2010). Fermentation of sulphite-free white musts with added lysozyme and oenological tannins: Nitrogen consumption and biogenic amines composition of final wines. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1501–1507. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.011>

Correia, C. A. (2011). *Espectroscopia de infravermelho na análise de mostos e vinhos* [Tesis de maestría, Universidade de Aveiro]. Ria repositório institucional Universidade de Aveiro. <http://hdl.handle.net/10773/8108>

Roberts, J. D. y Caserio, M. C. (2021, marzo 5) *25.4 Analysis of amino acids*. Chemistry Libretexts [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_\(Roberts_and_Caserio\)/25%3A_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/25.04%3A_Analysis_of_Amino_Acids#25-4A_The_Ninhydrin_and_Related_Tests](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Basic_Principles_of_Organic_Chemistry_(Roberts_and_Caserio)/25%3A_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/25.04%3A_Analysis_of_Amino_Acids#25-4A_The_Ninhydrin_and_Related_Tests)

Dubernet, M., Dubernet, M., Grasset, F., y García, A. (2001). Analyse de l'azote assimilable dans les moûts par Interférométrie Infrarouge à Transformée de Fourier. *Revue Francaise d' Oenologie*, 187(1), 9–13. <http://dubernet.com/pdf/publications-scientifiques/rfoe187.pdf>

Dukes, B. (2010). What is yeast assimilable nitrogen (YAN) and how much is needed? En C. E. Butzke (Ed.), *Winemaking problems solved* (pp. 52–76). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845690188.52>

EBC Analytica. (2015). *Free amino nitrogen in wort by spectrophotometry – Manual Method (IM)-2015*. Knowledge Center Brewup by the Brewers of Europe. <https://brewup.eu/ebc-analytica/wort/free-amino-nitrogen-in-wort-by-spectrophotometry-manual-method-im/8.10.1>

EBC Analytica. (2017). *9.10.2 Free amino nitrogen in beer by discrete analyser (NOPA Method)*. Knowledge Center Brewup by the Brewers of Europe. https://www.analyticalsolns.com.au/product/discrete_analyser_professional.html

Escuela de Vitivinicultura presidente Tomas Berreta (2013) *Guías prácticas de análisis y control de mostos y vinos (A.C.M.V.) Módulo enológico I*. https://laboratorioacmv.weebly.com/uploads/2/2/3/6/22360620/guia_m._enol_i_

versin_6__agosto-13_.pdf

Fabrice Lorenzini et Ágnes Dienes-Nagy. (2016). Azote assimilable des moûts: de quoi parle-t-on? *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 48(5), 330–331. https://www.revuevitiarbohorti.ch/wp-content/uploads/2016_05_f_859.pdf

Filipe-Ribeiro, L., y Mendes-Faia, A. (2007). Validation and comparison of analytical methods used to evaluate the nitrogen status of grape juice. *Food Chemistry*, 100(3), 1272–1277. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.006>

García, M. del C. y Bermejo, M. J. (2006) *Laboratorio de bioquímica, Técnico Sup. En Laboratorio de Diagnóstico Clínico*. Editorial MAD. Google libros https://books.google.com.co/books?id=B3XbyZ_5NcYC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

Geisler, J., y Weiß, N. (2015). Free Amino Nitrogen (FAN) Measurement in beer using an Eppendorf BioSpectrometer. *Short Protocol Eppendorf*, (09), 10–12. https://www.eppendorf.com/uploads/media/Protocol_009_-_Free_Amino_Nitrogen__FAN__Measurement_in_Beer_using_an_Eppendorf_BioSpectrometer_02.pdf

Giddings, J. C. y Keller, R. A. (2020) *Chromatography. Encyclopedia Britannica*. Britannica. <https://www.britannica.com/science/chromatography>.

Giraldo, G. A., Chamorro, N. L., y Doria, C. M. (2010) *Laboratorio de Bioquímica: una visión práctica*. Armenia, Quindío: Ediciones Elizcom. Google libros https://books.google.com.co/books?id=dAbMDrXcTHsC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

Gobert, A., Tourdot-Maréchal, R., Sparrow, C., Morge, C., y Alexandre, H. (2019). Influence of nitrogen status in wine alcoholic fermentation. *Food Microbiology*, (83), 71–85. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.04.008>

Gomis, D., Lobo, A. M., Alvarez, M. D., y Alonso, J. J. (1990). Determination of

amino acids in apple extracts by high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, (29)3/4, 155–160. <https://doi.org/10.1007/BF02268703>

González, A. (2000) *Nitrógeno fácilmente aprovechable para las levaduras* [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica de Chile] https://www.researchgate.net/publication/265683519_Nitrogeno_facilmente_aprovechable_para_las_levaduras

González, A. (2010) *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. Google libros <https://books.google.com.co/books?id=v7asFduLUFsC&pg=PA21&dq=potenciometr%C3%ADa+medicion+de+pH&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjfmvPmx6HuAhWjEVkFHTQQC1IQ6AEwAXoECAMQAg#v=onepage&q=potenciometr%C3%ADa%20medicion%20de%20pH&f=true>

González, Á. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular* (3rd ed.). Editorial Elsevier. Google libros https://books.google.com.co/books?id=oACiDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbg_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Gump, B. H., Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., y Whiton, R. S. (2002). Comparison of analytical methods for prediction of prefermentation nutritional status of grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 325–329. <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/49450/325.full.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Hernández, A. G. (2010) *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. Editorial Elsevier. Google Libros https://books.google.com.co/books?id=TGqg1EcTF70C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

Hernández, L. y Pérez, C. (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Editorial

	Ariel	S.A.	Google	Libros
	https://books.google.com.co/books?id=yVYn7_MoaAIC&printsec=frontcover&q= analisis+instrumental+espectrofotometria&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwi4zqKh73vAhUKjVkkHSC3gQ6AEwCXoECAkQAg#v=onepage&q= analisis%20instrumental%20espectrofotometria&f=true			
	Hernández, M. J. (1988). <i>Estudio y aplicaciones analíticas de las reacciones de la cistina, cisteína y N-acetil-L-cisteína con el o-Ftaldehído</i> [Tesis de Doctorado, Universitat de Valencia]. https://core.ac.uk/download/pdf/71029628.pdf			
	Hernández, M., Villanueva, R., y Álvarez-Coque, M. (1990). Determination of Total Free Amino Acids with o-Phthalaldehyde and N-Acetyl-L-cysteine. <i>Microchemical Journal</i> (42), 288-293. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0026-265X(90)90057-C			
	Hidalgo, J. (2018). <i>Tratado de enología</i>. Ediciones Mundi-Prensa. Google Libros https://books.google.com.co/books?id=og-CDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true.			
	Hill, A. E., y Stewart, G. G. (2019). Free amino nitrogen in brewing. <i>Fermentation</i>, 5(1). https://doi.org/10.3390/fermentation5010022			
	Instituto de Salud Pública Chile. (2010). <i>Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos"</i>. https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia Técnica 1 validación de Métodos y determinación de la incertidumbre de la medición_1.pdf			
	Jajic, I., Krstovic, S., Glamocic, D., Jaksic, S., y Abramovic, B. (2013). Validation of an HPLC method for the determination of amino acids in feed. <i>Journal of the Serbian Chemical Society</i>, 78(6), 839–850. https://doi.org/10.2298/JSC120712144J			

Jara, M., Cubillos, F. A., García, V., Salinas, F., Aguilera, O., Liti, G., y Martínez, C. (2014). Mapping genetic variants underlying differences in the central nitrogen metabolism in fermenter yeasts. *PLOS ONE*,(9), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086533>

Khan Academy (2021). *Espectroscopia: la interacción de la luz y la materia. Cómo podemos usar la radiación UV-Vis y la radiación IR para determinar la estructura química y la concentración de soluciones*. Khan Academy. <https://es.khanacademy.org/science/chemistry/electronic-structure-of-atoms/bohr-model-hydrogen/a/spectroscopy-interaction-of-light-and-matter>.

Khan Academy (2021). *La luz: ondas electromagnéticas, espectro electromagnético y fotones propiedades de la radiación electromagnética y los fotones*. Khan Academy. <https://es.khanacademy.org/science/chemistry/electronic-structure-of-atoms/bohr-model-hydrogen/a/light-and-the-electromagnetic-spectrum>

Kelly, M. T., Blaise, A., y Larroque, M. (2010). Rapid automated high performance liquid chromatography method for simultaneous determination of amino acids and biogenic amines in wine, fruit and honey. *Journal of Chromatography A*, 1217, 7385–7392. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.09.047>

Koga, R., Miyoshi, Y., Todoroki, K., y Hamase, K. (2017). Amino acid and bioamine separations. En *Liquid Chromatography* (Second Edi, pp. 87–106). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805392-8.00004-9>

Lallemand. (2015). Información práctica sobre elaboración de vino, los numerosos roles del nitrógeno en la fermentación alcohólica. *Lallemand Oenology*. Lallemand. <https://www.lallemandwine.com/wp-content/uploads/2017/06/Wine-Expert.-Los-numerosos-roles-del-nitrógeno-en-la-fermentación-alcohólica.pdf>

Li, D., Xu, X., Li, Z., Wang, T., y Wang, C. (2020). Detection methods of ammonia nitrogen in water: A review. *Trends in Analytical Chemistry*, 127, (1-16) <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115890>

Li, H., Qiu, T., Cao, Y., Yang, J., y Huang, Z. (2009). Pre-staining paper chromatography method for quantification of γ -aminobutyric acid. *Journal of Chromatography A*, 1216(25), 5057–5060. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.044>

Lie, S. (1973). The EBC-Ninhydrin method for determination of free alpha amino nitrogen. *Brewing Industry Research Laboratory*, 79, 37–41. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1973.tb03495.x>

Linde (2021). *Analytical Methods, Liquid chromatography*. Linde. http://hiq.linde-gas.com/en/analytical_methods/liquid_chromatography/index.html

Materials Evaluation and Engineering, I. (2014). *Fourier Transform-infrared spectroscopy*. MEE. <https://www.mee-inc.com/hamm/fourier-transform-infrared-spectroscopy-ftir/>

Megazyme. (2005). *Amoniaco (Rápido) procedimiento de ensayo*. https://www.vinotec.cl/images/pdf/2_Kit_Amonio_Rapido.pdf

Megazyme. (2012). *Primary Amino Nitrogen (PAN) Assay Procedure*. https://www.fts.co.nz/image/data/PDF/K-PANOPA_1207_DATA.pdf

Megazyme. (2020). *Ammonia (Rapid) Assay Procedure*. https://www.megazyme.com/documents/Assay_Protocol/K-AMIAR_DATA.pdf

Merck KgaA. (2017). *Ficha de Datos de Seguridad Potasio yoduro p.a. EMSURE ISO, Reag. Ph Eur* (pp. 1–5). Merck. https://www.merckmillipore.com/CO/es/product/Potassium-iodide,MDA_CHEM-105043

	Merck KGaA. (2020). <i>Manual métodos de análisis para la industria cervecera Spectroquant</i>. Prove. Merck. https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-ES-Site/es_ES/-/EUR/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA_CHEM-173017&DocumentId=201611.034.ProNet&DocumentUID=39334433&DocumentType=PI&Language=ES&Country=NF&Origin=PDP Mettler Toledo. (2016). <i>Espectrofotometría UV/VIS Fundamentos y Aplicaciones</i>. Mettler-Toledo GmbH, Analytical. Mettler Toledo. https://www.mt.com/dam/non-indexed/po/ana/uvvis/30364341A_V12.16_UVVIS_Spectrophoto_Guide_es_LR_12.12.16.pdf Muñoz, S., y Tobeña, A. (2013). Nitrógeno fácilmente asimilable. Sørensen vs. PAN/Amonio. <i>Revista Enólogos</i>, 84, 38–41. http://www.revistaenologos.es/download.php?type=doc&name=A36_Nitrogenofcilmenteasimilableweb.pdf Organización Internacional de Normalización ISO/IEC 17025. (2017). <i>Norma Internacional ISO/IEC 17025 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración</i>. Tercera edición, Suiza. Otama, L, Tikanoj, S., Kane, H., Hartikainen, S., Kaski, L., y Suoniemi-kähärä, A. (2013). Beer Reference Sample Correlation Between Free Amino Nitrogen (FAN) and NOPA (Nitrogen by OPA). <i>2013 ASBC Annual Meeting</i>. https://silo.tips/download/thermo-fisher-scientific-ratastie-2-vantaa-finland-2-thermo-fisher-scientific-st Otama, Liisa, Tikanoja, S., Kane, H., Hartikainen, S., Kaski, L., y Suoniemi-kähärä, A. (2015). Correlation of the Free Amino Nitrogen and Nitrogen by O - Phthaldialdehyde Methods in the Assay of Beer. Thermo Scientific, 4. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-71798-DA-FAN-Nitrogen-Beer-AN71798-EN.pdf Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., y Vyvyan, J. (2009). <i>Introduction to</i>
--	---

spectroscopy (Fourth Edi). Editorial Brooks Cole CENGAGE Learning.

Perrett, D., y Nayuni, N. K. (2014). 23 Efficacy of current and novel cleaning technologies (ProReveal) for assessing protein contamination on surgical instruments. En Walker, J.T.(Ed.), *Decontamination Hospitals and Healthcare* (p.p 598-619) Woodhead Publishing Limited.
<https://doi.org/10.1533/9780857096692.3.598>

Petrovic, G. (2018). *A survey of the YAN status of South African grape juices and exploration of multivariate data analysis techniques for spectrometric calibration and cultivar discrimination purposes* [Tesis de maestría, Stellenbosch University]. SUNScholar Research repository.
<http://hdl.handle.net/10019.1/104952>

Petrovic, G., Aleixandre-Tudo, J. L., y Buica, A. (2019). Unravelling the complexities of wine: A big data approach to yeast assimilable nitrogen using InfraRed spectroscopy and chemometrics. *Oeno One*, 53(2), 107–127.
<https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.2.2371>

Petrovic, G., Aleixandre-Tudo, J. L., y Buica, A. (2020). Viability of IR spectroscopy for the accurate measurement of yeast assimilable nitrogen content of grape juice. *Talanta*, 206 (1-7).
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120241>

P. Industries (2004). *Cuarta Edición, Métodos analíticos para los procesos de fermentación y destilación a partir de materias primas provenientes de la caña.*

Prasad, B. (2020) *Chemical analysis and material characterization by spectrophotometry.* Elsevier. Google Libros
https://books.google.com.co/books?id=iwvBDwAAQBAJ&source=gbs_navlinks_s

Quattrocchi, O. A., Andrizzi, S. I., y Laba, R. F. (1992) *Introducción a la HPLC aplicación y práctica.* Artes Gráficas Farro.

R-Biopharm Ag. (2020). Enzytec TM Liquid Ammonia Ref. N° E8390. https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/2020/10/e-liquid_ifu_e8390_ammonia_en_v1.pdf

Ress, O. J. (Ed.) (2010). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Developments, Techniques, and Applications*. Nova Science Publishers

Ricci, A., Parpinello, G., Laghi, L., Lambri, M., y Versari, A. (2014). Chapter 2: Application of infrared spectroscopy to grape and wine analysis. En D. Cozzolino (Ed.) *Infrared Spectroscopy Theory, Developments and Applications* (pp. 17–42). Nova Science Publishers.

Roca-Mesa, H., Sendra, S., Mas, A., Beltran, G., y Torija, M. J. (2020). Nitrogen preferences during alcoholic fermentation of different non-saccharomyces yeasts of oenological interest. *Microorganisms*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020157>

Sadjadi, S. (2019). Vamos a explorar las razones por las que la fase estacionaria C18 es la más usada en fase reversa y cómo funciona. Phenomenex. <https://phenomenex.blog/2019/10/09/fase-estacionaria/>

Sgariglia, M., Soberón, J. R., Sampietro, D., y Vattuone, M. (2010). Cromatografía: Conceptos Y Aplicaciones. *Revista Arakuku*, 1, (1–6). https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/75465/CONICET_Digital_Nro.3655a360-b03b-44c8-8519-bc747d073f7c_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Sharma, DC. y Riyat, M. (2015) *Biochemistry for dental students*. Wolters Kluwer Health. Google Libros https://books.google.com.co/books?id=azjvDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true

Simkus, D. N., Aponte, J. C., Elsila, J. E., Parker, E. T., Glavin, D. P., y Dworkin, J. P. (2019). Methodologies for analyzing soluble organic compounds in

extraterrestrial samples: amino acids, amines, monocarboxylic Acids, aldehydes, and ketones. *Life*, 9, (47) 1-30. <https://doi.org/10.3390/life9020047>

Skoutelas, D., Ricardo-da-Silva, J. M., y Laureano, O. (2011). Validation and comparison of formol and FT-IR methods for assimilable nitrogen in vine grapes. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 32(2), 262–266. <https://doi.org/10.21548/32-2-1386>

Spedding, G. (2013). The World's Most Popular Assay? A Review of the Ninhydrin-Based Free Amino Nitrogen Reaction (FAN Assay) Emphasizing the Development of Newer Methods and Conditions for Testing Alcoholic Beverages. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 71(2), 83–89. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2013-0411-01>

Stewart, G. G. (2013). Biochemistry of Brewing. En M. Eskin y F. Shahidi (Ed.), *Biochemistry of Foods* (pp. 291–318). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091809-9.00007-8>

Stewart, G. G., Hill, A., y Lekkas, C. (2013). Wort FAN - Its characteristics and importance during fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 71(4), 179–185. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2013-0921-01>

Subramanian, A., y Rodríguez-Saona, L. (2009). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. En D. Sun (Ed.), *Infrared spectroscopy for food quality analysis and control* (pp. 145–178). Elsevier Inc. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374136-3.00007-9>

Suriñach, A. (2017). *Method validation of enzymatic ammonia method and colorimetric free amino nitrogen method applied to wine industry* [Tesis de Pregrado, Universitat de Barcelona]. Diposit Digital Universitat de Barcelona. <http://hdl.handle.net/2445/107170>

Thermo Nicolet Corporation. (2001). *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*. <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/FTIR>

	principles.pdf Trujillo, A.; Vega, P., y Barajas, L. (2014) <i>Potenciometría: usos y aplicaciones. CienciaCierta</i>, 38. http://www.cienciacierta.uadec.mx/2014/06/05/potenciometria-usos-y-aplicaciones/ Ugliano, M., Henschke, P., Herdrich, P., y Pretorius, M.J. (2007). Nitrogen management is critical for wine flavour and style. <i>Wine Industry Journal</i>, 22(6), 24-30. http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.610.5251&rep=rep1&type=pdf Vargas, R., y Loaiza, H. (2011). Filtrado de señales en espectrofotometría de absorción mediante wavelets invariantes a la traslación. <i>Ingeniería e Investigación</i>, 31(3), 142–154. http://www.scielo.org.co/pdf/iei/v31n3/v31n3a16.pdf VIM. (2012). <i>VIM Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)</i>. Vintessential Laboratories. (2013). <i>Kit de análisis para la determinación de alfa amino nitrógeno en jugo de uva</i>. https://www.vintessential.com.au/assets/datasheets/file/test-kit-instructions/espanol/2014/spanish-4a110-amino-acid-nitrogen-30-test.pdf Vintessential Laboratories. (2014). <i>Kit de análisis enzimático para la determinación de amoníaco en jugo de uva y en vino</i>. http://www.vintessential.com.au/assets/datasheets/file/test-kit-instructions/espanol/2014/spanish-4a120-enzymatic-ammonia-30-test.pdf Vintessential Laboratories. (2017). <i>Enzymatic test kit for the determination of ammonia in grape juice and wine</i>. https://www.vintessential.com.au/assets/datasheets/file/test-kit-
--	---

	instructions/2018/4a120-ammonia-30-20072017.pdf Waters. (1993). <i>Waters 717plus Autosampler. In Waters 717 plus Autosampler Operator's Manual</i> (p. 188). Yokohama, S., y Hiramatsu, J. (2003). A modified ninhydrin reagent using ascorbic acid instead of potassium cyanide. <i>Journal of bioscience and bioengineering</i>, 95(2),204-205. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)80131-7
Año	2021
Resumen	La determinación de Amino Nitrógeno Libre, también conocido como Nitrógeno Fácilmente Asimilable (NFA) el cual suele expresarse también bajo los acrónimos FAN o YAN por sus siglas en inglés (Yeast Assimilable Nitrogen), es necesaria en los procesos fermentativos; para dicha determinación hay diversos métodos de análisis, los cuales presentan similitudes o diferencias de acuerdo a las características de cada método y de la técnica analítica empleada. Independientemente del método aplicado para la determinación, es primordial que este cuantifique los analitos de interés, ya que, la levadura, microorganismo encargado de la fermentación absorbe únicamente el nitrógeno proveniente de los alfa-aminoácidos (a excepción de la prolina) y el ion amonio. Se conocen algunos métodos de análisis para dicha determinación, como por ejemplo el método de ninhidrina, el de formaldehído y el método OPA (o-ftaldialdehído) entre otros; los cuales varían según la técnica utilizada, el desarrollo procedimental, rangos de aplicación, entre otros aspectos como uso de equipos, reactivos o el tratamiento de la muestra. Resulta necesario revisar a fondo si los métodos aplicados cuantifican efectivamente las fuentes de nitrógeno en los analitos de interés (α-aminoácidos – prolina + ion amonio); conviene considerar los aspectos como aplicabilidad, confiabilidad, tiempos de respuesta, entre otras características propias de cada método. La revisión permite describir y analizar cada uno de los métodos seleccionados, así recopilar información mediante la comparación de las características consideradas relevantes, con el fin de brindar información clara y unificada.

	Para la revisión bibliográfica se genera una lista de búsqueda a partir de expresiones y términos relativos a cada método en estudio, usándolos en motores de búsqueda, bibliotecas científicas, bases de datos, repositorios institucionales e incluso sitios web; la elección de los documentos se realiza de acuerdo a: el tipo, la información contenida, su alcance y la relevancia, año de elaboración y su conexión con otros documentos.
Palabras Claves	Levadura, nitrógeno asimilable, fermentación, método de análisis, aplicabilidad.
Contenidos	La monografía trata de la revisión de los métodos de análisis existentes empleados en la determinación de nitrógeno fácilmente asimilable NFA; con el fin de establecer que métodos determinan efectivamente los analitos de interés mediante la descripción de cada metodo, considerando para ello sus principios de funcionamiento, técnicas empleadas y parámetros estadísticos; dichos métodos aplicados en diversas industrias relacionadas con materiales destinados a fermentación alcohólica como por ejemplo la industria del vino, de la cerveza o el alcohol.
2. Descripción del problema de investigación	
¿Qué métodos de análisis cuantifican con mayor efectividad los analitos de interés para la nutrición de la levadura y que parámetros estadísticos permiten determinar el desempeño de cada metodo identificado?	
3. Objetivos	
Objetivo General Comparar métodos analíticos empleados en la determinación de Nitrógeno Fácilmente Asimilable (NFA) en materiales que experimentan fermentación alcohólica, mediante revisión y análisis de la literatura existente para extraer y compilar las características de cada uno de los métodos seleccionados que permita establecer su aplicabilidad. Objetivos Específicos	

- Describir la técnica analítica y el principio de funcionamiento de cada método para establecer como se genera el mecanismo de respuesta.
- Construir una matriz de comparación con características cualitativas y cuantitativas de los métodos de análisis seleccionados.
- Elaborar el diagrama de flujo con la secuencia de pasos para la ejecución de cada método analítico en la determinación de NFA.
- Relacionar las características de los métodos analíticos con su desempeño y aplicación, para establecer la eficiencia en la cuantificación de analitos de interés.

4. Metodología

Se realiza una revisión bibliográfica de documentos confiables en: bases de datos, revistas de publicación académica, páginas web, repositorios institucionales entre otros recursos de tipo investigativo que hablen o describan los métodos de análisis en estudio; partiendo de la información seleccionada se realiza el análisis de cada metodología analítica, las técnicas empleadas y los diferentes parámetros relacionados con la calidad del desempeño, para desarrollar la comparación a partir de las características que engloba todo el desarrollo de cada método analítico.

5. Referentes teóricos

La fermentación alcohólica está relacionada con la producción de bebidas alcohólicas o directamente con la producción de etanol; estos procesos productivos se desarrollan gracias a un microorganismo que se encarga de transformar azúcares en etanol y dióxido de carbono; se trata de la levadura; este microorganismo no solo consume azúcares dentro de sus procesos metabólicos, también requiere de otros compuestos necesarios para un adecuado desarrollo. El nitrógeno es después de los azúcares, el nutriente más relevante en el metabolismo de la levadura; por ello dentro de los controles que se llevan a cabo dentro de la fermentación se halla la determinación del nitrógeno asimilable por la levadura.

No todas las fuentes de nitrógeno que estén presentes en el sustrato o medio de fermentación, pueden ser metabolizadas por la levadura, ya que ésta solo puede aprovechar el nitrógeno que se halla bajo la forma ion amonio NH_4^+ o aminoácidos primarios con la excepción de la prolina. La determinación NFA en un proceso fermentativo que se hace para establecer la cantidad de nitrógeno disponible para la levadura; en el caso de que exista una deficiencia, se requiere ajustar apropiadamente su concentración, mediante una adición exógena de componentes que aporten

nitrógeno asimilable para la levadura.

Los métodos de análisis que existen para la determinación y cuantificación de NFA son químicos e instrumentales; los cuales varían en función de las técnicas aplicadas como volumetría, potenciometría, espectrofotometría y cromatografía. Los más empleados comúnmente son el método de formaldehído, los métodos combinados enzimático y OPA (o-ftaldialdehído) (Petrovic, Aleixandre-Tudo, y Buica, 2019), el método de ninhidrina, el de aminoácidos primarios por HPLC y el método de FT-IR (Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier), estos últimos frecuentemente empleados a nivel investigativo.

Debido a que la determinación de NFA normalmente se desarrolla sobre un proceso intermedio, no se tiene una norma de obligatorio cumplimiento para la cuantificación; algunas organizaciones como asociaciones de cerveceros o de la industria vinícola recomiendan el método a emplear para realizar el control en sus procesos.

Por tal razón, se investigó sobre los métodos recomendados y aquellos con mayor disponibilidad a fin de desarrollar un análisis de cada uno, los métodos seleccionados son:

- El método de titulación con Formaldehído “probablemente el más conocido y utilizado en las bodegas (...) también llamado método Sørensen” (Muñoz y Tobeña, 2013, p. 39).
- El método OPA que utiliza o-ftaldialdehído y es capaz de detectar nitrógeno libre de α -aminoácidos (Filipe-Ribeiro y Mendes-Faia, 2007), este se desarrolla en conjunto con el método enzimático, el cual se utiliza para medir el amonio utilizando la enzima glutamato deshidrogenasa (Muñoz y Tobeña, 2013).
- El método de ninhidrina recomendado por la European Brewery Convention (EBC)
- El método HPLC para determinación de aminoácidos, “el cual combina velocidad y sensibilidad en la cuantificación de aminoácidos individuales” (Gump et al., 2002).
- El método FT-IR “espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es un método alternativo para la medición de nitrógeno asimilable” Dubernet, Traineau, Lerch, Dubernet y Coulomb (Citado por Casalta, Sablayrolles y Salmon, 2013, p. 272).

En general, puede decirse que la selección del método es flexible y depende de la decisión del interesado, sin embargo, esta flexibilidad en la selección del método puede llevar a que, por desconocimiento u omisión de criterios de calidad, no se consideren todas las características

relevantes del método a utilizar o no se tengan definidos los requisitos analíticos, que son determinantes en la calidad de los resultados. Antes de ser usado un método debe asegurarse que se pueda lograr el desempeño requerido (Organización Internacional de Normalización ISO/IEC 17025, 2017). Adicional a ello, algunas descripciones de métodos suelen ser poco profundas u omitir datos que resultan necesarios para la correcta selección del método que pueda brindar resultados confiables.

6. Referentes conceptuales

Características de desempeño: en relación a un método de análisis, son características que brindan información para establecer si el método tiene capacidad para cumplir el uso previsto y responde de acuerdo a las necesidades. ISO/IEC 17025 (2017) indica:

Las características de desempeño pueden incluir, pero no se limitan a, el rango de medición, la exactitud, la incertidumbre de medición de los resultados, el límite de detección, el límite de cuantificación, la selectividad del método, la linealidad, la repetibilidad o la reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo y el sesgo.(p.13)

Coeficiente de variación: (CV) Instituto de Salud Pública Chile (2010) describe que corresponde a la desviación estándar dividida en la media; también se expresa como desviación estándar relativa (RSD), para expresarse en porcentaje el coeficiente de variación es multiplicado por 100.

Cromatografía líquida HPLC: técnica empleada para separar componentes o solutos de una mezcla; los componentes se separan físicamente distribuyéndose en dos fases, una de ellas es un lecho estacionario y la otra un fluido que pasa a lo largo del lecho (Giddings y Keller; 2020; García y Bermejo; 2006).

Espectrofotometría: es una rama de la química analítica que se ocupa de estudiar las interacciones que se dan entre la radiación electromagnética con la materia; en ese orden se estudian las propiedades de los materiales y se cuantifican especies químicas; todo esto se lleva a cabo mediante la medición de luz que es absorbida, emitida, reflejada o dispersada por el material (Prasad, 2020).

Espectroscopia IR (FTIR): es un método instrumental que consiste en el estudio de la interacción de la radiación con la materia, la fuente de radiación emite en el rango del espectro infrarrojo; que pasa a través de un interferómetro y de ahí a la muestra generando un interferograma, luego es

registrado por un detector y finalmente se modifica la señal en una computadora donde se realiza la transformada de Fourier y se convierte en un espectro.

Fermentación alcohólica: proceso complejo que engloba transformaciones químicas, bioquímicas y fisicoquímicas, donde la levadura convierte azúcares principalmente fructosa y glucosa, en alcohol y dióxido de carbono.

Nitrógeno fácilmente asimilable: (NFA) son los componentes de nitrógeno presentes en el sustrato o medio donde la levadura se encuentra y que pueden ser absorbidos o asimilados por el microorganismo. Este nitrógeno se halla bajo la forma de ion amonio NH_4^+ o aminoácidos primarios con la excepción de la prolina.

Potenciometría: técnica electroquímica, que se basa en la medición de la diferencia de potencial (voltaje) que aparece entre dos electrodos introducidos en una solución, donde cada electrodo cumple una función para establecer dicha diferencia; un electrodo denominado de referencia tiene un potencial conocido que es fijo, e independientemente del medio donde sea sumergido no cambia, el otro electrodo es llamado indicador, cuyo potencial depende del logaritmo de la concentración del analito que debe medirse en la muestra (González, 2019; Trujillo, Vega, y Barajas, 2014).

Precisión: descrita por el Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales y términos asociados (VIM) (2012) como la proximidad entre un valor medido que se obtiene en mediciones repetidas de un mismo objeto o similares bajo ciertas condiciones especificadas que pueden ser condiciones de repetibilidad, precisión intermedia o reproducibilidad.

Selectividad: “es el grado en que un método puede cuantificar o cualificar al analito en presencia de interferentes. Estos interferentes normal o frecuentemente se encuentran en la matriz de interés” (Instituto de Salud Pública Chile, 2010, p.27).

Técnica de análisis: se trata de un principio científico aplicado dentro de un método de análisis, junto a otras operaciones secuenciadas y lógicas lleva a cabo una medida o identificación.

Volumetría: técnica cuantitativa de adición de volúmenes que consiste en determinar un volumen de una solución cuya concentración es conocida y ha sido requerida en una reacción química con un volumen conocido de una sustancia.

7. Resultados

Se pueden indicar algunos resultados relevantes como:

- El método que se emplee para una determinación debe ser adecuado al fin previsto, es decir que cuantifique los analitos de interés; en este caso trata exclusivamente de dos tipos de compuestos, ya que, nuestro analito de interés está conformado por α -amino nitrógeno (proveniente de aminoácidos primarios) y el ion amonio (fracción mineral).
- La capacidad de todos los métodos en estudio para generar una respuesta instrumental lineal en función de la concentración del analito; esto permite indicar a su vez el rango de respuesta o trabajo de los métodos; para el método de HPLC este rango fue sustancialmente diferente frente a los otros métodos, por ejemplo, el método de Formol presenta un rango de trabajo entre 7,8 -324 mg/l N frente a 0,25-10 mg/L N del método HPLC; en general esto implica que la muestra deba diluirse en mayor proporción para que la respuesta se halle dentro del rango, aspecto que igualmente presentan otros de los métodos (ninhidrina, OPA-Enzimático).
- Se observa que todos los métodos presentan interferentes que pueden afectar la calidad de los resultados; estos interferentes están asociados a la propiedad específica que se cuantifica. Todos los métodos exhiben uno o varios posibles interferentes que en general pueden ser tratados y eliminados, sin embargo, no es lo que ocurre con la presencia de Prolina en las muestras que se analizan mediante método de formaldehído o método de ninhidrina.
- Respecto al intervalo de trabajo de los métodos descritos, en general se hallan dentro del rango que se espera debe hallarse NFA para el desarrollo de un buen proceso fermentativo; aunque HPLC describe concentraciones mucho más bajas como rango de aplicación, cabe hacer la observación que incluso otros de los métodos presentan buenos resultados aun cuando fuera necesario realizar diluciones de la muestra y para el análisis de las muestras por HPLC, no es excepción.
- Entre los métodos analizados, el aspecto relacionado con el tiempo que tarda en reportarse el resultado tras la ejecución de un método analítico se puede identificar: el método por HPLC es el que consume mayor tiempo en generar un resultado y en su opuesto el método que tarda menos tiempo en su desarrollo es el FTIR, para el cual las muestras no requieren mayor preparación y el análisis tarda unos 2 minutos.
- En relación con las características cualitativas de los métodos, conviene indicar que el

método de FTIR es entre los 5 el que presenta una menor necesidad de equipos o reactivos; solo es necesario contar con un espectrofotómetro apropiado (FTIR) para desarrollar el análisis de NFA, no requerir reactivos y materiales, además de la pequeña cantidad de muestra para el análisis.

- Se hallaron expresiones como YAN, FAN, NFA o PAN, acrónimos empleados para referirse de forma corta a la fracción de nitrógeno asimilable por la levadura; sin embargo, parece ser que el acrónimo empleado en algunos casos condiciona la fracción de nitrógeno a la que se refiere; frente a otros registros donde no hay tal condición. Estas diferencias en el significado de los acrónimos y lo que se desea expresar puede llevar a cometer errores de interpretación e influenciar la selección de un determinado método de análisis.

8. Conclusiones

- Es importante indicar que antes de emplear un método de análisis es necesario asegurar su desempeño dentro del laboratorio donde se pretende emplear, lo cual implica desarrollar procesos como la verificación o validación del método.
- Existe una ventaja clara del método FTIR, frente a los demás métodos, dado que no requiere uso de reactivos y genera resultados en muy corto tiempo, lo cual puede ser ventajoso en procesos donde se requiera en análisis de numerosas muestras, sin embargo, para su implementación es importante asegurar la calidad de los datos empleados en la calibración.
- Existe una desventaja clara del método de formol: debido a la peligrosidad del formol, el tiempo que tarda el desarrollo del análisis y que implica una constante presencia del personal, el volumen de muestra requerido para el análisis y por consiguiente el volumen de residuos que deben manejarse.
- El nitrógeno asimilable por las levaduras es la suma de dos tipos de compuestos.